M. Edm. Bonnet donne lecture de la communication suivante :

SIMPLE NOTE SUR LA PRODUCTION DE LA CHLOROPHYLLE DANS L'OBSCURITÉ, par **M. d'ARBAUMONT.**

Dans sa séance du 27 juin dernier, la Société botanique de France a reçu communication d'une note très intéressante d'un de ses membres, M. Ch. Flahault, *Sur la présence de la matière verte dans les organes actuellement soustraits à l'influence de la lumière* (1).

Les faits anormaux dont notre confrère vient de reprendre l'étude ne sont pas nouveaux pour la science, mais il ne paraît pas qu'on se soit suffisamment occupé jusqu'ici d'en déterminer la cause par la recherche des circonstances dans lesquelles ils se produisent.

D'après M. Flahault, ces faits se rapporteraient tous à deux ordres de phénomènes différents.

Ainsi la chlorophylle renfermée sous des téguments souvent fort épais, dans l'embryon de certains Phanérogames : *Evonymus*, *Acer*, *Citrus*, *Viscum*, etc., se produirait, suivant lui, pendant la première période de la formation de la graine, alors que, grâce à la transparence et au peu d'épaisseur des parois ovariennes, la lumière pénétrait facilement dans les parties les plus profondes. La substance verte ainsi produite dans les conditions normales se conserverait ensuite pendant longtemps sans altération, mais inerte, dans une obscurité complète, jusqu'au moment de la germination, où l'afflux de nouveaux rayons lumineux doit lui rendre, avec sa plasticité première, toute l'énergie de son rôle physiologique. Dans les jeunes plantes des *Pinus* et autres Conifères, développées sous une couche épaisse de terre, c'est seulement au contraire au moment de la germination que les cotylédons commencent à se colorer en vert ; d'où la conclusion que la chlorophylle se forme ici sans intervention de la lumière.

M. Flahault affirme en outre avoir constaté expérimentalement que, dans l'un et l'autre cas, le phénomène qui nous occupe est constamment accompagné de la transformation des matières nutritives emmagasinées dans la plante, ce qui laisse entrevoir, entre le maintien ou la formation de la chlorophylle dans l'obscurité et la disparition des dépôts de réserve, une relation probable de cause à effet.

Cet exposé sommaire des observations de M. Flahault était indispensable pour préparer l'étude des faits que je demande maintenant la permission de signaler à la Société botanique. Il n'est pas à ma connais-

(1) *Bull. de la Soc. bot.* 1879, p. 249 et suiv.

sance qu'ils aient jamais fait l'objet d'aucune remarque, et je les crois de nature à corroborer sur certains points le système de mon honoré confrère.

On sait que dans la plupart, sinon dans toutes les variétés cultivées des *Cucurbita maxima* et *Pepo*, les parois ovariennes du fruit mûr sont garnies à l'intérieur d'une couche pulpeuse fort épaisse, dans laquelle sont engagées plus ou moins profondément les graines avec leurs trophospermes. La surface de ce tissu de revêtement est creusée de larges sillons longitudinaux correspondant aux divisions carpellaires, et il s'en détache dans certains endroits, surtout dans le voisinage et sur le parcours des trophospermes, des masses de tissu granuleux ou framboisé, qui proéminent ou pendent en grappes lâches dans l'intérieur de la cavité.

Toute la masse de ce tissu de revêtement est essentiellement formée d'un lacis assez compliqué de filaments vasculaires noyés dans un parenchyme spongieux, dont les éléments, surtout au voisinage des graines, prennent ordinairement un développement considérable. J'ai mesuré dans cette région des cellules qui variaient de $0^{mm},36$ à 1 millimètre de longueur, sur $0^{mm},17$ à $0^{mm},62$ de largeur. Ces cellules affectent d'ailleurs les formes les plus variées ; leurs parois restent toujours très minces, et elles sont remplies d'un mucilage granuleux incolore, tenant ordinairement en suspension des gouttelettes huileuses et des corpuscules de couleur jaune plus ou moins foncée, semblables à ceux qui donnent à la chair épaisse du mésocarpe sa coloration caractéristique. Je désignerai, si l'on veut, ces corpuscules sous le nom de paillettes.

L'amidon est assez rare dans les cellules franchement parenchymateuses de la paroi ovarienne, tandis qu'on le rencontre au contraire assez abondamment au voisinage des filaments vasculaires, sous forme de grains arrondis ou elliptiques très variables de dimensions.

Il y a quelques années — c'était en novembre 1875 — le hasard fit tomber sous mes yeux un quartier de Potiron (*Cucurbita maxima*) de la variété dite *Potiron jaune gros*, plus ou moins franche, dont la pulpe ovarienne, jaune pâle à l'ordinaire, ou tirant parfois sur l'orangé, était colorée dans certains endroits en vert foncé. Cette coloration se remarquait surtout sur le bord des sillons carpellaires ou des crevasses provoquées par le développement exagéré des tissus, et plus encore dans le voisinage des graines, et sur quelques-uns des processus filamento-parenchymateux qui pendaient dans la cavité ovarienne.

Je crus tout d'abord à une simple invasion de moisissure, mais, voulant déterminer l'espèce du parasite qui la provoquait, — *Mucor* ou *Aspergillus*, — il me fut bien vite facile de reconnaître mon erreur.

A la loupe, puis sous le microscope, à un faible grossissement, je constatai, non sans étonnement, que cette coloration anormale était due,

non pas à la fructification d'un Cryptogame inférieur, mais bien à la présence, dans les grandes cellules à parois minces qui entouraient les filaments vasculaires, d'un nombre considérable de grains verts, parfaitement intacts dans certaines cellules, plus ou moins altérés dans les cellules voisines, et présentant dans les premières toute l'apparence des grains ordinaires de chlorophylle.

Le fait me parut intéressant, et, me plaçant justement au point de vue qui a été depuis celui de M. Flahault, je résolus d'en suivre l'étude. Ici, comme dans plusieurs des exemples cités par mon honoré confrère, je me trouvais en présence de ce phénomène remarquable, sinon de la formation, — ce que de prime abord je croyais difficile à prouver, — tout au moins de la persistance de la chlorophylle verte et granuleuse dans des régions tissulaires soustraites absolument et depuis longtemps à toute action de la lumière.

Le fruit, en effet, était arrivé à sa complète maturité; il ne s'y manifestait aucune trace d'altération pathologique, et il avait été récolté en temps normal, longtemps après l'épaississement des parois ovariennes qui, dans l'espèce cultivée dans mon jardin, atteignent, au minimum, de $0^m,07$ à $0^m,08$ d'épaisseur.

Ce phénomène était d'autant plus remarquable que, dans toutes les autres parties du fruit, graines, épicarpe et mésocarpe, la substance chlorophyllienne, tout au moins à l'état vert, avait complètement disparu. Je dis à l'état vert, car on sait que la présence de la chlorophylle jaune ou amorphe a été constatée dans la graine des *Cucurbita* (1).

Mon premier soin fut de contrôler cette observation par l'examen de plusieurs autres fruits qui furent ouverts devant moi. La plupart d'entre eux contenaient également, dès le moment de l'ouverture, des groupes plus ou moins considérables de cellules vertes.

J'ai eu depuis diverses occasions de constater des faits semblables, notamment en décembre 1877, et les remarques auxquelles ils ont donné lieu ont été consignées, comme les précédentes, dans une suite de notes et de dessins que mon intention de compléter plus tard ces recherches, ou même de les comprendre dans un travail d'ensemble sur la production de la chlorophylle sans intervention de la lumière, m'avait empêché jusqu'ici de sortir de mes cartons.

La communication de M. Flahault m'engage à ne pas attendre plus longtemps, et à apporter telle quelle ma petite part de contribution à l'étude de cette question intéressante.

Dans tous les exemples que j'ai eus sous les yeux, je n'ai jamais rencontré de grains de chlorophylle ailleurs que dans les grandes cellules

(1) A. Héraud, *Nouveau Dictionnaire des plantes médicinales*, Paris, 1875, p. 167.

à parois minces du tissu granuleux dont la situation a été suffisamment indiquée plus haut.

Ils s'y montrent toujours en assez grand nombre, tantôt nageant isolés dans le suc cellulaire ou réunis en petits groupes, tantôt au contraire amoncelés en masses compactes qui occupent le centre même des cellules ou sont quelquefois rejetées de côté contre l'une des parois, mais sans y contracter jamais d'adhérence.

Considérés en eux-mêmes, on reconnaît aisément que ces grains sont ordinairement de forme lenticulaire, à contours assez réguliers, circulaires, elliptiques ou vaguement polygonaux. Leur coloration verte est très franche, avec un noyau central réfringent, ou quelquefois aussi, mais beaucoup plus rarement, avec deux ou plusieurs petits centres de réfringence isolés ou confluents. Enfin, traités par l'iode, ils présentent la réaction ordinaire de la chlorophylle amylacée, ce qui achèverait au besoin de lever tous les doutes sur leur véritable nature. Quelques-unes de mes notes constatent cependant, je dois l'avouer, que l'iode paraît être resté sans action sur le noyau central de certains grains qui avaient été préalablement décolorés par l'alcool. Mais ce ne sont là en tout cas que des faits exceptionnels et peut-être mal observés. Je regrette qu'il soit trop tard cette année pour les contrôler par de nouvelles observations.

Le diamètre des grains est variable. J'en ai rencontré qui mesuraient de $0^{mm},002$ à $0^{mm},004$, avec des intermédiaires. Ce qui varie beaucoup moins, c'est le mode de distribution de ces mêmes grains. Il y a, à cet égard, une localisation assez remarquable, les grains de même grosseur étant toujours réunis dans les mêmes cellules.

Et maintenant, étant bien établi que ce sont réellement des grains de chlorophylle que nous avons sous les yeux, je me trouve ramené à la question qui s'est naturellement posée au commencement de ce travail. Comment expliquer la présence de cette substance dans une région du fruit depuis longtemps soustraite à toute action lumineuse ? Les choses se passent-elles ici comme pour l'embryon des *Acer*, *Evonymus* et autres plantes où la chlorophylle se forme, d'après M. Flahault, dans les premiers temps du développement de l'ovaire? Ou bien, au contraire, avons-nous affaire à un nouveau cas de formation chlorophyllienne en dehors de toute intervention de la lumière ?

On peut opposer de sérieuses objections à la première de ces hypothèses.

Et tout d'abord il me répugne d'admettre que la substance verte de la chlorophylle persiste, aussi longtemps après sa formation, dans les parties les plus profondes de l'ovaire, tandis qu'elle a complètement disparu des couches plus extérieures. Je remarque, en outre, qu'en raison de sa constitution élémentaire et de la position même qu'il occupe dans le fruit, le

tissu grumeleux à grandes cellules framboisées, où l'on rencontre cette substance, présente tous les caractères d'un véritable tissu de prolifération qui a dû se former tardivement, à une époque où les parois ovariennes avaient déjà pris une épaisseur considérable. L'étude du développement de ce tissu nous aurait directement fixé sur ce point. Je n'ai malheureusement pas eu occasion de l'entreprendre.

Je suis frappé d'une autre considération, c'est que, si les grains de chlorophylle dataient des premiers temps du développement de l'ovaire, il faudrait bien admettre, la croissance des tissus qui les renferment s'étant produite également et proportionnellement sur tous les points de la cavité ovarienne, que ces mêmes grains, simples épaves d'un état antérieur, devraient se trouver épars et disséminés dans des cellules isolées sur toute la surface de cette paroi. Or, j'ai constaté au contraire que les cellules vertes sont toujours accumulées sur certains points assez exactement circonscrits, tandis qu'elles font absolument défaut partout ailleurs.

Comment expliquer en outre, dans cette hypothèse, qu'à égalité de grosseur et de maturité, on trouve de ces grains dans certains fruits et qu'on n'en trouve pas dans d'autres? La cause de cette diversité ne peut évidemment résider que dans une modification constitutionnelle intervenue chez certains ovaires au cours, et très probablement dans une des dernières périodes, de leur développement. Quant à déterminer le pourquoi de cette modification, ce serait une entreprise audacieuse dans laquelle il ne m'appartient pas d'entrer pour le moment. C'est assez de constater le fait.

Mais il y a plus, et j'apporte, à l'appui de ma façon de voir, des preuves tirées de l'observation directe :

1° J'ai rencontré souvent dans les cellules vertes des grains en voie de bipartition, avec formation de deux centres bien distincts de réfringence. La substance chlorophyllienne a donc conservé ici toute son activité vitale; elle n'est pas restée à l'état d'inertie, commec elle qu'on rencontre sous les téguments épais de la graine chez les *Acer* ou les *Evonymus*. Il y a une différence sensible entre les deux phénomènes.

2° Je relève parmi mes dessins celui d'une cellule récemment divisée en deux par la formation d'une cloison longitudinale. Chacune des cellules filles est encore munie de son noyau bien visible, et chaque noyau est entouré d'une couche de fines granulations chlorophylliennes.

Je surprends ici sur le fait le phénomène de la formation de la chlorophylle dans l'obscurité la plus complète. Est-ce à dire qu'il en ait été de même pour tous les grains renfermés dans les cellules voisines, et qu'on puisse ainsi généraliser les conséquences de cette observation ?

Je n'oserais aller jusque-là, mais de tout ce qui précède il me semble clairement résulter que la présence de la chlorophylle dans la cavité du

fruit mûr chez les *Cucurbita* se rattache toujours, soit à un fait de formation récente, soit à la bipartition répétée de quelques grains formés primitivement dans l'ovaire, double phénomène vital qui se produit, dans l'un et dans l'autre cas, indépendamment de toute action des rayons lumineux.

Je n'ai plus qu'une observation à présenter sur ce point, mais il est important d'en tenir compte.

J'ai constaté que les cellules à chlorophylle étaient toujours situées au contact ou tout au moins dans le voisinage de dépôts de matières nutritives, et notamment de dépôts amylacés ordinairement assez abondants. Cette remarque vient à l'appui des idées de M. Flahault touchant l'influence des matériaux de réserve sur la production ou la conservation de la chlorophylle dans l'obscurité, et elle va en outre nous permettre de risquer une conjecture sur le rôle physiologique qu'il convient d'attribuer à cette substance ainsi localisée.

Formée tardivement ou tout au moins entretenue et renouvelée aux dépens des matériaux de réserve situés à sa portée, elle doit très probablement contribuer elle-même à entretenir pendant quelque temps ce foyer d'alimentation, soit par la production de nouveaux grains d'amidon, soit plus probablement par l'élaboration de principes immédiats qui, se répandant dans les tissus après la dissolution des grains verts, arrivent jusqu'à la graine pour servir à son alimentation.

Je viens de parler de la dissolution des grains verts. C'est sur le mécanisme de cette dissolution considérée dans ses différentes phases que je voudrais maintenant appeler un instant l'attention du lecteur. L'étude de ces phénomènes de dégradation présente un certain intérêt, et je ne pouvais souhaiter de trouver pour l'entreprendre un champ d'observations plus assuré que celui qui se présentait à moi.

On se rappelle en effet qu'à côté des cellules dont les grains de chlorophylle sont demeurés intacts et franchement colorés en vert, il s'en trouve constamment d'autres où la substance chlorophyllienne est au contraire plus ou moins altérée, de telle sorte qu'on peut rencontrer dans un espace restreint, et quelquefois même dans une seule et unique préparation, toutes les formes de transition entre le type normal de la chlorophylle granuleuse et les paillettes jaunes qui en dérivent dans le fruit mûr.

Il y a, m'a-t-il paru, deux modes ou deux processus principaux de dégradation, avec quelques nuances intermédiaires : la dégradation centripète et la dégradation centrifuge.

Quelquefois, en effet, c'est à la périphérie que les grains de chlorophylle commencent à se décolorer ; cette décoloration gagne peu à peu le noyau central, qui, tout en restant réfringent, finit par s'entourer d'une couche de substance pigmenteuse d'un jaune assez foncé, finement granuleuse et affectant la forme, tantôt de petits bâtonnets, tantôt de corpuscules

elliptiques, le plus souvent de simples paillettes irrégulièrement découpées.

Quand le grain de chlorophylle est arrivé à ce degré d'altération, toute la partie périphérique s'est transformée en une matière mucilagineuse incolore chargée de granulations graisseuses ou amylacées, et qui tend à se dissoudre dans le suc cellulaire ambiant. Mais cette dissolution s'opère lentement ; aussi rencontre-t-on souvent des amas de paillettes jaunes englobées avec leurs noyaux réfringents dans une sorte de magma mucilagineux où les contours des grains primitifs sont encore vaguement indiqués.

Dans la dégradation centrifuge, la décoloration commence au contraire à se manifester au centre du grain, tandis qu'on voit se former à la périphérie des dépôts plus ou moins réguliers de matière réfringente fortement teintée de vert. Tantôt cette matière dessine autour du grain un cercle continu, tantôt elle se dispose en deux segments reliés l'un à l'autre par leurs extrémités amincies, ou en deux bâtonnets affectant la forme d'un V; tantôt enfin il ne se produit qu'un seul segment en forme de croissant muni de cornes très effilées qui se rejoignent aussi à l'autre extrémité du diamètre. Cette dernière disposition paraît être la plus fréquente.

Je n'insisterai pas sur un type plus rare dans lequel la matière réfringente se condense en épaississements flexueux ou vermiculaires qui sillonnent le grain en divers sens.

Tandis que la partie centrale continue de s'éclaircir, les épaississements en cercle ou en segments ne tardent pas à s'altérer à leur tour ; on les voit s'obscurcir peu à peu et prendre une coloration jaune semblable à celle des paillettes centrales qui ont été décrites un peu plus haut.

Lorsque l'épaississement forme autour des grains un cercle continu, celui-ci garde souvent assez longtemps cette forme primitive, mais il finit toujours par se fragmenter de manière à former en se déroulant deux, trois ou même un plus grand nombre de petites paillettes rectangulaires.

Les épaississements en segments se rompent aussi aux points restés minces à la périphérie du grain, et, s'il ne s'est formé qu'un segment en croissant, c'est au point de jonction de ses cornes effilées que la rupture se produit.

Ces segments se redressent ensuite peu à peu et l'on a alors des corps fusiformes plus ou moins grêles, dont la ressemblance est souvent très frappante avec certaines Diatomées de la tribu des *Pleurosigma*.

Ces diverses espèces de paillettes ont été décrites et figurées par M Trécul, qui les a observées dans les fruits de plusieurs végétaux, notamment dans ceux du *Capsicum pseudocapsicum*, du *Lycium vulgare*, des *Lonicera etrusca*, *Caprifolium*, etc., etc., sans toutefois les avoir direc-

tement rattachées à un état quelconque de dégradation chlorophyllienne. Je renvoie sur ce point au mémoire du savant botaniste (1), sous réserve, bien entendu, des opinions de l'auteur, aujourd'hui fort ébranlées, touchant la nature vésiculaire de ces formations.

Lorsque les segments épaissis des grains en voie de dégradation centrifuge se sont ainsi écartés ou distendus après la rupture de leurs points d'attache, la partie centrale, au lieu de s'en isoler comme on serait tenté de le croire tout d'abord, y reste au contraire assez longtemps adhérente, sous forme d'un corps globuleux à contours peu accusés, et ordinairement teinté en vert pâle.

Ici encore peuvent se rencontrer plusieurs dispositions différentes. Quand deux paillettes se sont formées par segments dans un même grain, elles s'évasent ordinairement d'un seul côté et présentent alors l'aspect de deux glumes d'avoine dans l'entrebâillement desquelles est plus ou moins engagé le corps globuleux en question. S'il ne s'est produit qu'une seule paillette, celle-ci conserve assez longtemps, vue de profil, la forme d'un croissant très évasé, et c'est sur sa partie concave que le corps globuleux reste attaché. Enfin, il y a aussi des formes intermédiaires, mais beaucoup moins fréquentes et dont le détail nous entraînerait trop loin.

Ce qu'il importe davantage de constater, c'est que les deux modes de dégradation, centripète et centrifuge, se rencontrent indifféremment dans les grains de toute taille; il m'a paru cependant que la dégradation centrifuge prédominait dans les plus petits grains.

Quel que soit d'ailleurs son mode d'adhérence aux paillettes, le corps globuleux, après être resté quelque temps faiblement teinté de vert, finit par se décolorer complètement, en se chargeant de fines granulations, et il contient presque toujours, en cet état, sur la ligne même ou sur la courbe d'adhérence, un ou deux noyaux réfringents, beaucoup plus visibles qu'ils ne l'étaient dans les grains de chlorophylle intacts. On se rappelle que ces noyaux persistent aussi en cas de dégradation centripète; ils font au contraire ordinairement défaut lorsque la dégradation a été vermiculaire ou sinueuse.

L'étude microchimique des grains de chlorophylle ainsi dégradés pourrait sans doute donner lieu à de curieuses observations. Je n'en ai malheureusement que de très sommaires à présenter sur ce point.

L'eau iodée et le chloroiodure de zinc donnent aux paillettes jaunes, de quelque mode de dégradation qu'elles dérivent, une teinte verte très accusée, qui tourne ensuite au jaune brun foncé.

La substance granuleuse des corps globuleux isolés ou agglutinés dans

(1) A. Trécul, *Les formations vésiculaires dans les cellules végétales* (*Annales des sciences naturelles*, 4e série, t. X, p. 154–155, et pl. v).

un magma mucilagineux se colore en rose au contact du sucre et de l'acide sulfurique, ce qui est l'indice d'une réaction azotée.

Enfin, si les noyaux réfringents décolorés ou même légèrement jaunis prennent encore quelquefois une teinte violacée quand on les traite par les réactifs iodés, on finit toujours par les voir se dissoudre dans l'alcool, par suite probablement d'une dégénérescence huileuse. Et en effet, dans les cellules où les grains sont complètement désagrégés, les noyaux disparaissent pour faire place à des gouttelettes très réfringentes,—probablement des gouttelettes d'huile, — tenues en suspension avec les paillettes elles-mêmes, dans le mucilage provenant de la dissolution des corps globuleux.

Quant aux paillettes, on les trouve alors, tantôt nageant isolément dans le suc cellulaire épaissi, tantôt accumulées en masses informes; ou bien encore, réduites en très petits fragments, elles sont réparties à la surface interne de grandes sphères hyalines qui occupent souvent un espace considérable dans la cavité cellulaire, et proviennent, selon toute apparence, de la dilatation des couches externes des anciens corps globuleux.

Ces diverses phases de dégradation s'observent très bien dans les cellules elles-mêmes, mais il est encore plus commode de les étudier sur les grains qui se sont répandus dans le liquide du porte-objet, ce qui facilite beaucoup la dislocation des paillettes et la dissolution finale des corps globuleux.

SÉANCE DU 2 AVRIL 1880.

PRÉSIDENCE DE M. COSSON.

M. Poisson, secrétaire, donne lecture du procès-verbal de la dernière séance, dont la rédaction est adoptée.

M. le Président fait part à la Société, dans les termes suivants, d'une nouvelle douloureuse qu'il vient de recevoir :

J'ai encore la pénible mission de vous annoncer une nouvelle perte que la Société vient de faire. J'apprends par une lettre de mon ami M. A. Letourneux, datée d'Alexandrie, que son oncle, un des botanistes qui ont le plus contribué à l'exploration botanique de l'ouest de la France, un des membres les plus anciens de notre association, a succombé à une courte maladie.